

Estudos dos efeitos de pH em porfirinas sulfonadas halogenadas

Samuel E. Rodrigues^{1,*}, Carlos J. P. Monteiro², Mariette M. Pereira², Pablo J. Gonçalves^{1,‡}

¹ *Universidade Federal de Goiás, Inst. Física, Goiânia - GO, Brasil*

² *Universidade de Coimbra, P-3004535, Depto. Química, Coimbra, Portugal*

Emails: samuelelias_rodrigues@hotmail.com, pablo@if.ufg.br

Palavras-chave: porfirinas, efeito de pH, protonação, propriedades fotofísicas.

1. Introdução

As porfirinas pertencem a uma classe de compostos orgânicos que possuem características específicas, como intensa absorção óptica na região UV/Vis, alta afinidade com estruturas biológicas, ação catalítica, alta estabilidade química e fotoquímica [1, 2]. Estas características as tornam apropriadas para diversas aplicações tais como, o tratamento de câncer através da Terapia Fotodinâmica (PDT), em aplicações ópticas como limitação óptica e chaveamento óptico, dentre outras [3, 4].

Este tipo de molécula está presente em diversos processos biológicos apresentando funções metabólicas de sítios ativos, como a hemoglobina e mioglobina, onde devido sua ligação com uma molécula de oxigênio possibilita seu transporte e liberação. A clorofila, que também possui um anel porfirínico, exerce importante função na fotossíntese, captando energia luminosa e transmitindo-a a moléculas vizinhas sob a forma de energia química [2, 5].

Dentre as vantagens da porfirina, temos que sua estrutura molecular permite realizar alterações através da inserção de prótons ou átomos metálicos no centro do anel porfirínico, bem como grupos periféricos ao seu anel central. Estas modificações que podem ser realizadas alteram suas propriedades eletrônicas como seções de choque de absorção, emissão fluorescente e tempos de relaxação. Isto se torna importante, pois permite ajustar às características desejadas [3, 6, 7].

Desta forma, a caracterização dos parâmetros fotofísicos destes compostos orgânicos se torna essencial e de fundamental importância para um maior entendimento/conhecimento de suas características e assim obter maior eficácia em suas diversas aplicações.

Revisado pelo orientador

**orientando, ‡ orientador*

2. Objetivos

Neste trabalho, estudamos as características fotofísicas de porfirinas sintéticas e sua dependência com seu estado de protonação. Especificamente, foi realizada a caracterização de porfirinas sulfonadas halogenadas ao alterar seu valor de pH. Com estudos voltados para os processos fotofísicos, foram empregadas as técnicas de absorção e emissão fluorescente. Para o devido entendimento dos processos envolvidos, foram estudados os aspectos teóricos dos mecanismos fotofísicos, as moléculas e os princípios físicos de funcionamento dos equipamentos, como o espectrofotômetro e o espectrofluorímetro.

3. Metodologia

3.1. Materiais

Para a realização deste trabalho, estudamos quatro amostras de porfirinas sulfonadas halogenadas, sintetizadas pelo grupo da Professora Mariette M. Pereira do Departamento de Química da Universidade de Coimbra (Portugal) e nos fornecida através do acordo de colaboração científica. As amostras foram organizadas com um e dois átomos halógenos (cloro e flúor) [8, 9]. Sua nomenclatura, abreviação e abreviação compacta estão apresentadas na tabela 1, enquanto sua estrutura molecular está apresentada na figura 1.

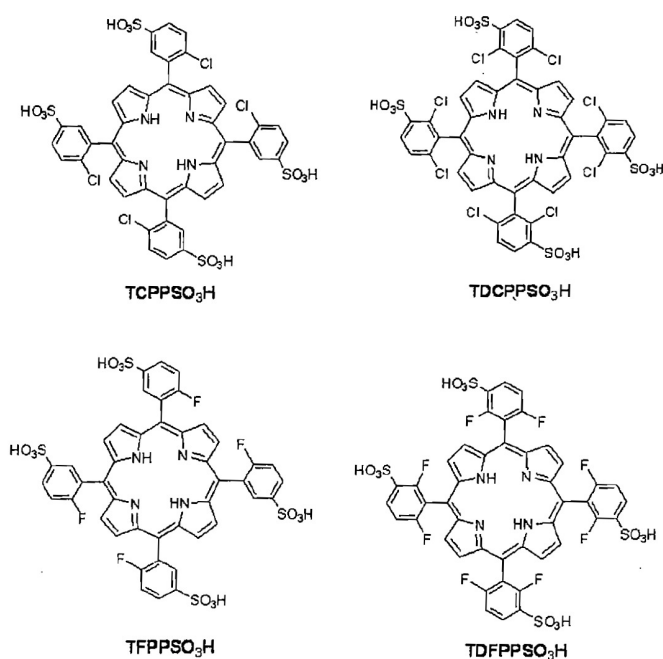


Figura 1: estruturas moleculares das amostras de porfirinas utilizadas.

Tabela 1: descrição das moléculas estudadas com sua abreviação e abreviação compacta (A.C.).

| Descrição | Abreviação | A.C. |
|---|-----------------------------|------|
| 5, 10, 15, 20 – meso-tetraquis (2-cloro-5-sulfofenil) | <i>TCPPSO₃H</i> | TC |
| 5, 10, 15, 20 – meso-tetraquis (2,6-cloro-3-sulfofenil) | <i>TDCPPSO₃H</i> | TDC |
| 5, 10, 15, 20 – meso-tetraquis (2-flúor-5-sulfofenil) | <i>TFPPSO₃H</i> | TF |
| 5, 10, 15, 20 – meso-tetraquis (2,6-flúor-3-sulfofenil) | <i>TDFPPSO₃H</i> | TDF |

3.2. Métodos

Para a análise dos processos fotofísicos estudados, tivemos como base o modelo de níveis de energia conhecido como diagrama de Jablonski. As transições eletrônicas foram monitoradas através de equipamentos como o espectrofotômetro e o espectrofluorímetro e os valores de pH foram ajustados adicionando NaOH e/ou HCl. A seguir apresentaremos um breve resumo destes itens.

3.2.1. Diagrama de Níveis de Energia

Nomeado em homenagem ao físico polonês Aleksander Jablonski, o diagrama de Jablonski (fig.: 2) representa os níveis de energia de uma molécula orgânica e suas transições eletrônicas [10].

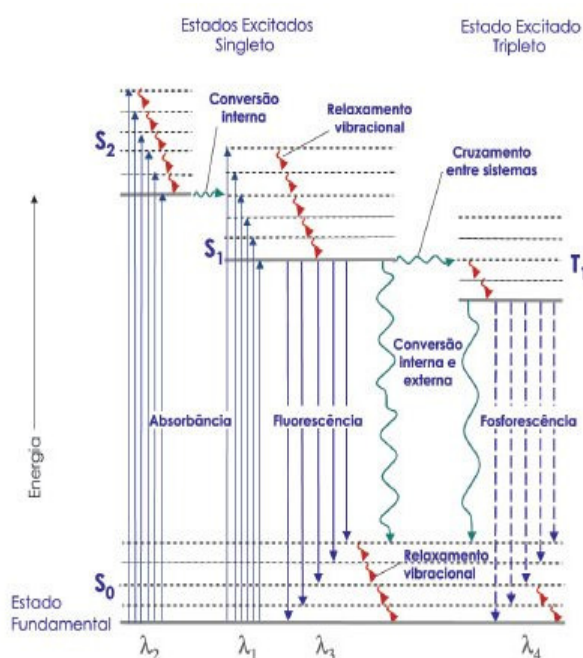


Figura 2: diagrama de níveis de energia que ilustra os estados energéticos de uma molécula e as transições entre eles [10].

Neste diagrama, S_0 , S_1 , S_2 e T_1 são os níveis de energia eletrônico de uma molécula, nas quais as linhas pontilhadas representam seus níveis vibracionais de cada estado. Os estados S , representam os estados singletos enquanto os estados T , os estados tripletos. Esta nomenclatura está associada com os estados de spin eletrônico total da molécula, nos estados singletos os spins estão emparelhados (anti-paralelos) e nos estados tripletos desemparelhados (paralelos), conforme ilustrado na figura 3.

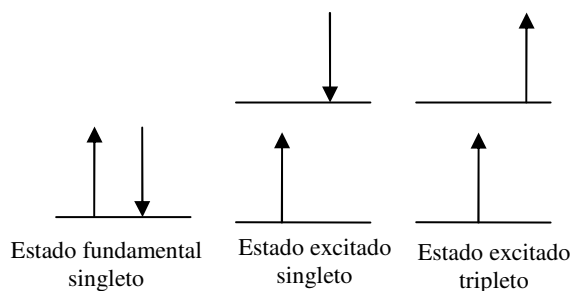


Figura 3: estados eletrônicos do spin da molécula, representando os estados singletos e tripletos.

No equilíbrio, a molécula se encontra no estado fundamental singlete S_0 . Vamos considerar que, após absorver um fóton de energia apropriada, esta molécula sofre uma transição eletrônica para o estado singlete excitado S_2 ($S_0 \rightarrow S_2$), chegando a um dos diversos níveis vibracionais de S_2 . Após ocorrer a absorção, terá início uma série de processos de relaxação. Os processos de relaxação dentro da banda são vibracionais e ocorrem até que se estabilize no nível vibracional de menor energia deste estado. Neste momento ocorrerá a relaxação entre níveis de energia do estado S_2 para o estado S_1 . O processo não radioativo entre bandas é denominado de conversão interna. Uma vez no estado S_1 , novamente ocorrerá relaxação vibracional dentro da banda até que se estabilize no nível vibracional de menor energia do estado S_1 .

A partir de então, a molécula tem três caminhos possíveis: i – realiza a transição eletrônica do estado singlete excitado S_1 para o estado singlete fundamental ($S_1 \rightarrow S_0$) através da fluorescência, emitindo fótons; ii – transição eletrônica $S_1 \rightarrow S_0$ através do processo de conversão interna, sem emissão de fótons; iii – transição eletrônica entre o estado singlete excitado S_1 e o estado tripleto excitado T_1 ($S_1 \rightarrow T_1$). Este processo $S_1 \rightarrow T_1$ é chamado de cruzamento inter sistemas e ao ser realizado a molécula sofre a inversão do spin eletrônico.

No estado T_1 , a molécula tende a voltar para o estado S_0 através do processo de conversão interna ou pelo processo de fosforescência, com emissão de fótons. O processo de retorno do estado tripleto T_1 para o estado singlete S_0 acontece de forma mais lenta (maior tempo de vida), pois os spins eletrônicos se encontram antiparalelos devido sua inversão no processo de transição $S_1 \rightarrow T_1$ (ver figura 3).

3.2.2. Espectrofotômetro

As medidas de absorção, ou absorvância, de uma amostra se dão através de um aparelho chamado espectrofotômetro (fig.: 4) no qual realiza medida da intensidade de absorção da molécula em função do comprimento de onda (λ).

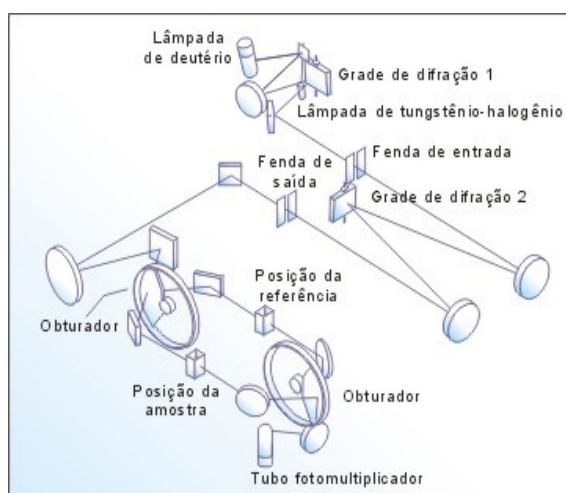


Figura 4: esquema de um espectrofotômetro de varredura de feixe duplo [11].

São instrumentos constituídos basicamente pelos seguintes componentes:

- **Fonte de irradiação:** são lâmpadas de corrente contínua, cuja potência não varie bruscamente em uma faixa considerável de comprimento de onda. As mais utilizadas são as lâmpadas de filamento de tungstênio/halogênio e lâmpada deutério.
- **Filtro ou Monocromador:** tem a função de dispersar a luz e selecionar uma faixa estreita de λ para passar pela amostra ou pelo detector. Seu princípio de execução se dá através da difração da luz. Suas características de desempenho se baseiam em: pureza espectral, dispersão, resolução e poder de coleta. Na figura 5 temos a demonstração do princípio de funcionamento de um monocromador e como ocorre a seleção do comprimento de onda. O feixe de luz passa pela fenda de entrada, onde ocorre difração. Esta luz difratada é conduzida, por espelhos côncavos e uma rede refletora, para a fenda de saída onde ocorrerá a seleção do comprimento de onda desejado.

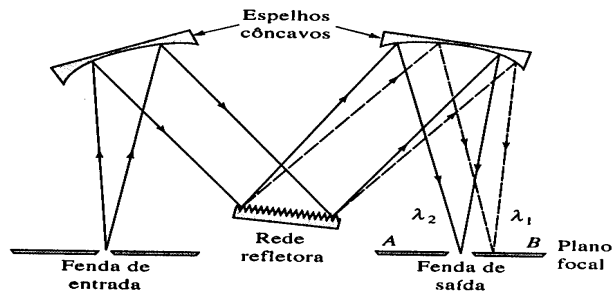


Figura 5: esquema do monocromador [12].

- **Obturador:** controla a passagem do feixe de radiação e seu acionamento se dá de forma manual e/ou eletromecânica.
- **Transdutores de Radiação:** sua função é converter energia radiante em sinais elétricos. Em um transdutor ideal se encontra as seguintes características: alta sensibilidade, alta relação sinal ruído, uma resposta constante sobre um intervalo grande de λ e apresenta um rápido tempo de resposta.
- **Recipientes para amostra:** é um porta-amostra de material transparente onde será colocada a cubeta contendo a amostra a ser estudada.
- **Dispositivos de leitura:** é o dispositivo que irá fornecer a impressão dos sinais elétricos em uma linguagem de leitura. Por exemplo, o computador.

Contudo, para adquirir os dados de absorção de uma amostra a fonte emite um feixe de luz difratado no qual passa pela seleção de comprimento de onda de excitação e, então, é direcionado para as cubetas, contendo a amostra. A figura 4 mostra um instrumento de duplo feixe que realiza a medida de referência e da amostra de forma simultânea. Estas medidas são expostas através do dispositivo de saída do instrumento, no caso o computador, apresentando o gráfico do espectro obtido o qual será posteriormente analisado. Em nosso caso, utilizamos um espectrofotômetro Beckman série DU 940.

3.2.3. Espectrofluorímetro

O espectrofluorímetro é um instrumento que permite registrar os sinais da emissão fluorescente da amostra em cada comprimento de onda, chamado de *espectro de emissão*. Existem dois tipos de espectros de emissão: o de fluorescência, que envolve a emissão entre estados de mesma multiplicidade de spins ($S_1 \rightarrow S_0$) e o de fosforescência que caracteriza a volta do estado tripleto para o fundamental ($T_1 \rightarrow S_0$).

A figura 6 apresenta um esquema de um espectrofluorímetro. A radiação luminosa emitida pela fonte é focalizada no monocromador de excitação, onde é dividida por um divisor de feixes. Parte da radiação é conduzida para a fotomultiplicadora de referência, que irá converter o sinal em medida, e outra passa pela amostra emitindo radiação fluorescente. A radiação da amostra é direcionada ao monocromador de emissão, na qual é detectada pela fotomultiplicadora da amostra contendo o sinal em medidas.

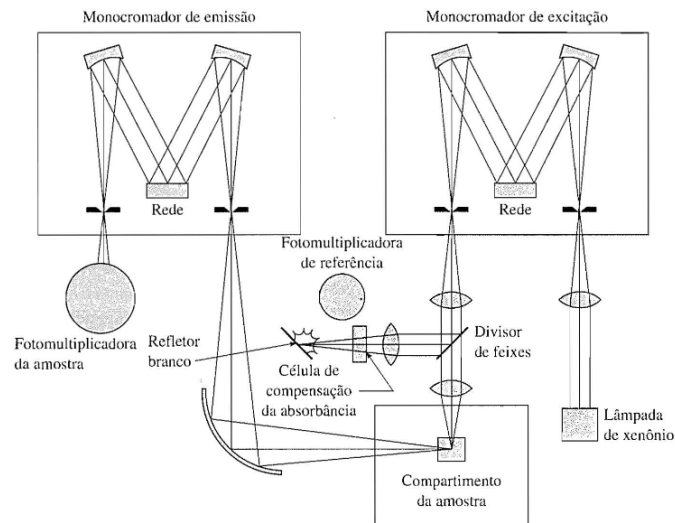


Figura 6: diagrama de um Espectrofluorímetro [10].

Os componentes típicos de um espectrofluorímetro são os seguintes:

- **Fonte:** emite energia luminosa. Na emissão são usadas fontes mais intensas do que as usadas na absorção, como a lâmpada de arco de xenônio de alta pressão, que possui uma potência de 75 a 450 W.
- **Monocromadores:** os monocromadores são compostos por um arranjo óptico, no qual a fonte se decompõe em diferentes comprimentos de onda através da uma grade de difração. Existem dois monocromadores, um de excitação e um de emissão. O monocromador de excitação seleciona os comprimentos de ondas para excitar a amostra e o de emissão faz a seleção do comprimento de onda da radiação emitida pela amostra.
- **Fotomultiplicadora de referência e da amostra:** são os transdutores do espectrofluorímetro, onde é convertido o sinal da radiação em sinais de leitura.

No estudo que aqui realizamos, utilizamos um espectrofluorímetro Fluorolog-3 da Horiba/Jobin-Yvn Inc.

4. Resultados e Discussões

A figura 7 apresenta os espectros de absorção da porfirina TDF em função do pH. Na figura 7(a) mostramos o espectro completo, obtido de 360 a 750 nm e suas devidas alterações. Geralmente, as porfirinas apresentam um intenso pico de absorção próximo a 400 nm, que é a chamada banda de Soret, ou banda B. Menores bandas são encontradas de 480 a 700 nm e são conhecidas como bandas Q. Para melhor visualizar as alterações devido as modificações do pH, apresentamos o mesmo espectro em duas diferentes regiões limitadas às bandas B e Q, como pode ser visto nas figuras 7(b) e 7(c), respectivamente.

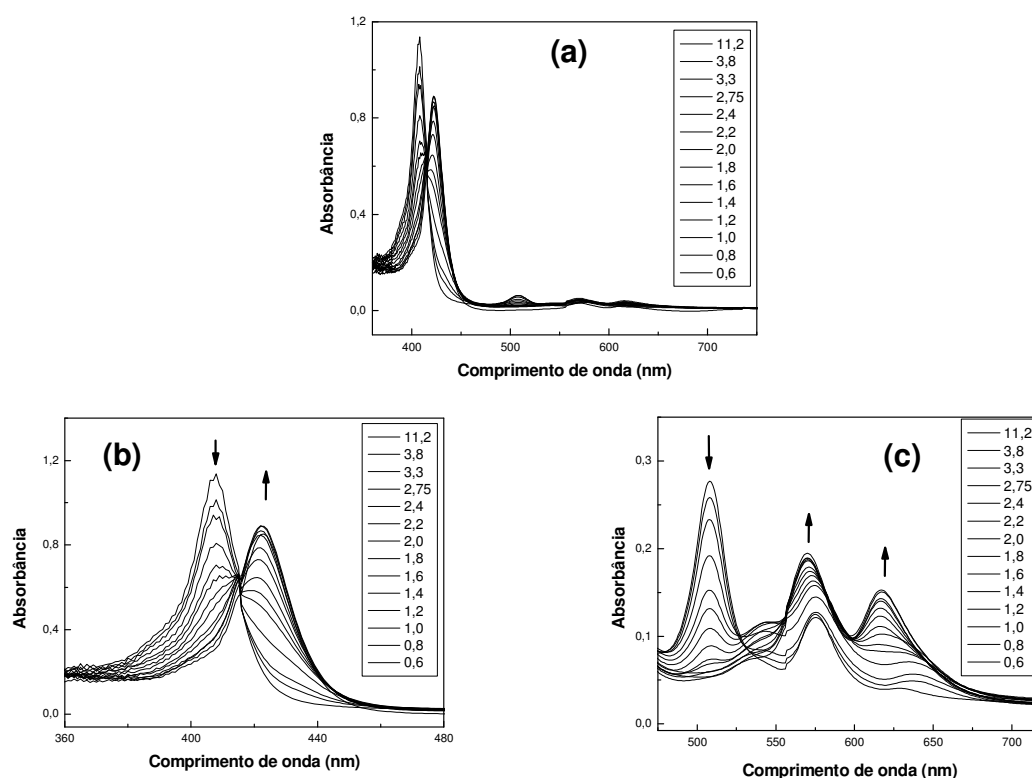


Figura 7: espectro de absorção da TDF de 360 a 480 nm (à esquerda) e de 470 a 720 nm (à direita).

Ao reduzir seguidamente o valor do pH, podemos observar que a banda centrada em 408 nm foi reduzida e uma nova banda em 422 nm foi formada. Nas bandas Q, em pH elevado temos inicialmente bandas centradas em 508, 543, 575 e 628 nm. À medida que o pH é reduzido, essas 4 bandas dão lugar a apenas duas bandas centradas em 570 e 617 nm. Para melhor visualização, na figura 8(a) apresentamos os espectros da TDF nos pHs 0,6 e 11,2. Um comportamento semelhante foi previamente observado na porfirina TPPS e foi atribuído à protonação do anel central quando o pH era deslocado para valores ácidos [6].

Através da análise da absorção em 508 nm (figura 8(b)) podemos obter o seu ponto de $pK = 2,5$. O ponto de pK significa que temos o equilíbrio entre as espécies, ou seja, 50 %

protonada e 50% não protonada. Da figura 8b, podemos observar que para pH maiores que 4, a absorção em 508 nm não muda, o que significa que atingimos uma saturação nesse pico, ou seja, teremos na solução apenas uma única espécie da porfirina estudada, a forma não protonada da porfirina TDF. De forma análoga, para valores de pH abaixo de 1,3, encontraremos apenas a forma protonada. Na região de 1,3 a 4,0 encontraremos ambas as espécies em diferentes proporções, sendo que atingem uma proporção de 50% de cada espécie no valor de pK (pH = 2,5).

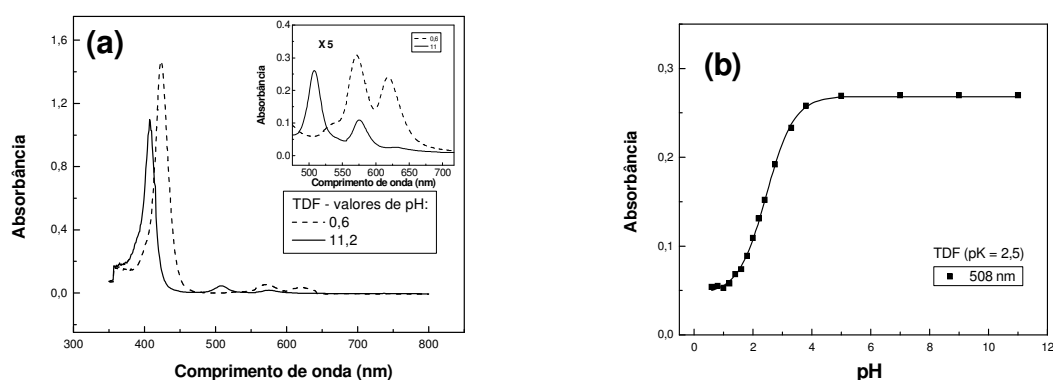


Figura 8: (a) espectro de absorção da TDF nos pHs 0,6 e 11,2. No seu interior apresentamos suas bandas Q. (b) absorção monitorada em 508 nm em função do pH.

A Figura 9 apresenta o espectro de emissão fluorescente da TDF nos estados protonados e não protonados, pHs 1,3 e 9,0. Nesta figura, podemos observar que no pH 9,0 a TDF apresenta dois picos intensos centrados em 639 e 695 nm, um menor pico em 476 e 594 nm. Em pH 1,3, temos uma intensa banda em 633 nm com um pequeno ombro em 687 nm. Também observamos um pico em 475 nm para ambas as amostras.

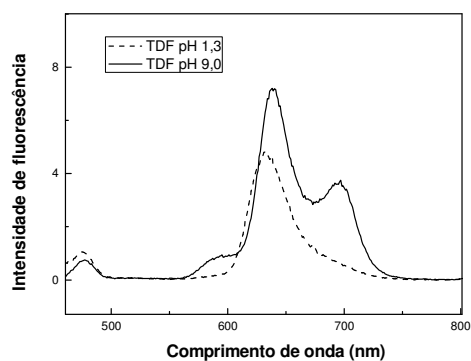


Figura 9: espectro de emissão fluorescente da TDF nos pHs 1,3 e 9,0.

Na figura 10(a) mostramos as alterações ocorridas na porfirina TF através do espectro de absorção obtido de 350 a 750 nm, nos pHs 1,2 e 5,4. De forma análoga a TDF, acreditamos que também ocorre a protonação da TF a medida que seu pH é reduzido. Ao analisar a figura

observa-se, para o pH reduzido, um intenso pico de absorção centrado em 428 nm na banda B e outros três pequenos picos em 538, 577 e 626 nm. Para o pH elevado nota-se um deslocamento do pico da banda B para 409 nm e na banda Q passa a ter quatro pequenos picos em 510, 547, 576 e 629 nm. Na figura 10(b) obtemos o valor de pK (3,5) a partir da análise da absorção em 510 nm.

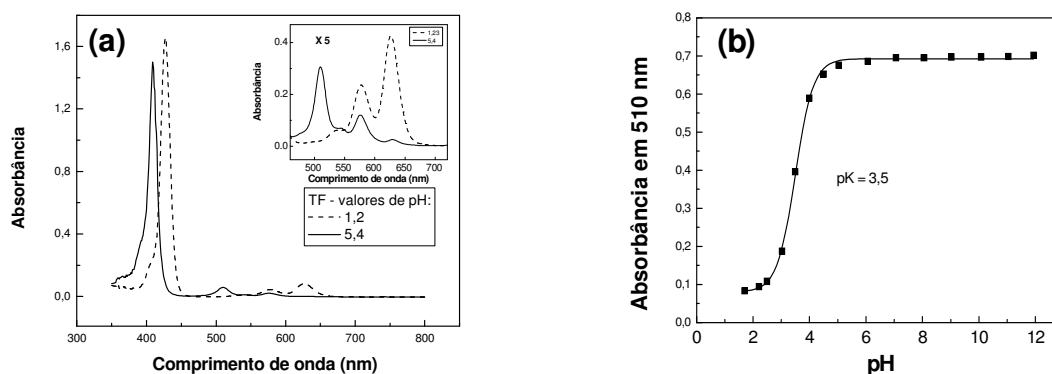


Figura 10: (a) espectro de absorção da TF nos pHs 1,2 e 5,4. (b) absorção monitorada em 510 nm em função do pH.

A figura 11 apresenta o espectro de emissão fluorescente da porfirina TF nos pHs 1,0 e 5,4. Nesta figura observamos para o pH 1,0 emissão situadas em 447 e 648 nm. Ao trabalhar a amostra com o pH 5,4, obtemos um espectro de emissão onde o pico de maior intensidade obtido no pH reduzido dá lugar a dois picos centrados em 637 e 696 nm, e também um pequeno pico em 597 nm. Observamos aqui a formação de um pico de fluorescência em 450 nm para a amostra protonada.

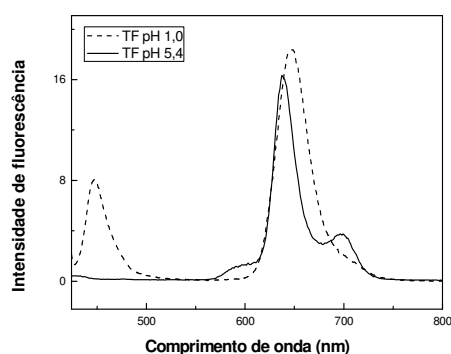


Figura 11: espectro de emissão fluorescente da TF nos pHs 1,7 e 5,4.

A figura 12 apresenta o espectro total, entre 350 a 800 nm, de absorção da porfirina TC e o estudo monitorado em 512 nm. Na figura 12(a) observa-se, para o pH 11,0, que na banda B há um intenso pico de absorção em 411 nm e na banda Q quatro picos menores em 512, 545, 578 e 632 nm. Para a molécula TC com pH 1,4, observa-se que na banda B o

intenso pico se desloca para 426 nm e a banda Q passa a apresentar três picos de absorção em 574, 536 e 622 nm.

Através do monitoramento da absorção foi realizado em 512 nm, obtendo o valor de $pK = 3,5$ para a porfirina TC, como mostra a figura 12(b).

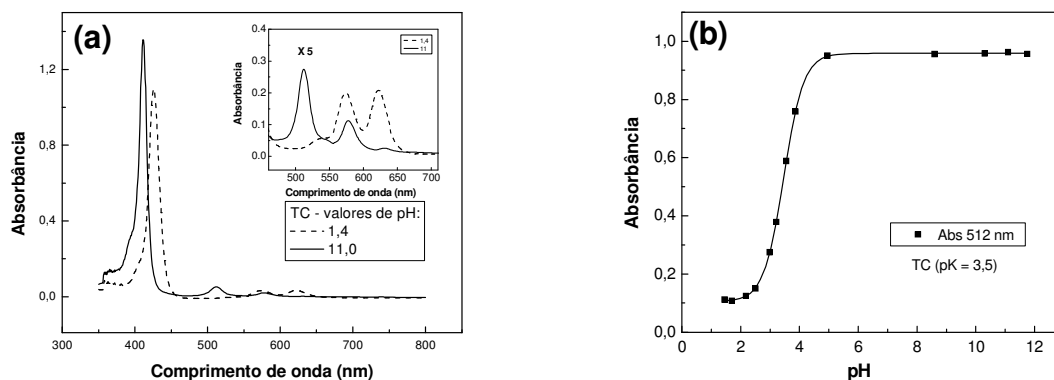


Figura 12: (a) espectro de absorção da TC nos pHs 1,4 e 11,0. (b) absorção monitorada em 512 nm em função do pH.

A figura 13 apresenta o espectro de emissão da porfirina TC de 460 a 800 nm, para os pHs 1,1 e 5,0. Para o menor pH observa-se a presença de um pico maior centrado em 638 nm, outro em 475 nm. Para o pH maior, observamos três picos de emissão centrados em 476, 641 e 702 nm e, também, nota-se a presença de um pequeno ombro em 588 nm. Aqui observamos um pico de absorção próximo do 480 nm para ambas as amostras.

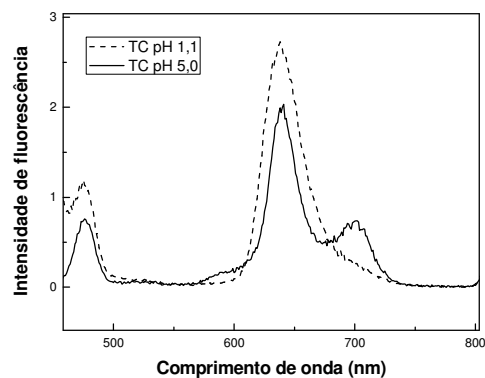


Figura 13: espectro de emissão fluorescente da TC nos pHs 1,3 e 9,0.

Na figura 14 apresentamos o espectro de absorção da porfirina TDC, entre 350 a 800 nm, para os pHs 0,6 e 5,2 e o monitoramento em 516 nm. Analisando a figura 14(a) observamos que o espectro obtido para o pH 0,6 apresenta na banda B intenso pico de absorção em 427 nm e na banda Q observa-se dois picos em 575 e 624 nm e um ombro em 536 nm. Para o pH 5,2 obtemos na banda B um intenso pico em 415 nm e um pequeno ombro

em 396 nm, a banda Q apresenta três picos em 516, 583 e 638 nm. Na figura 14(b) mostramos o gráfico obtido no monitoramento da absorção em 516 nm, encontrando $pK = 2,1$.

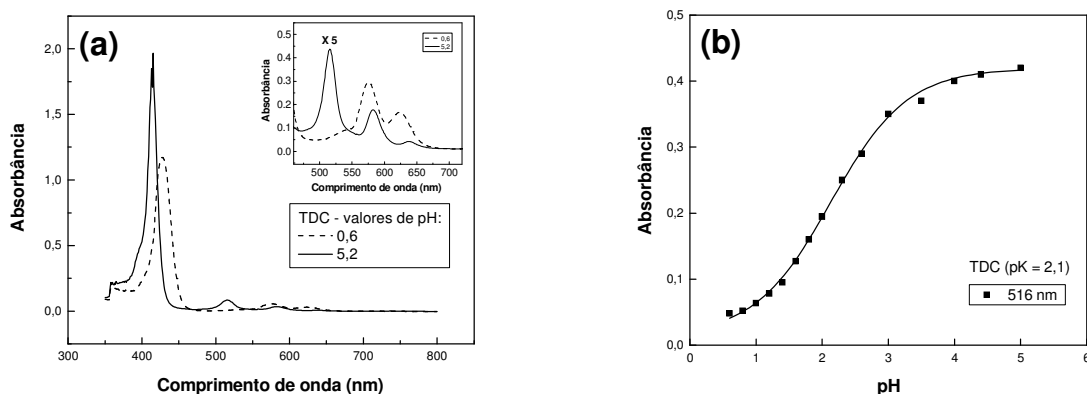


Figura 14: (a) espectro de absorção da TDC nos pHs 0,6 e 5,2. (b) absorção monitorada em 516 nm em função do pH.

Na figura 15 temos o espectro de emissão da porfirina TDC para os pHs 0,8 e 8,0, variando de 550 a 800 nm. No pH de menor valor observamos dois picos centrados em 640 e 710 nm. Para o maior valor de pH obtém-se dois picos centrados em 646 e 704 nm. Neste caso, não foi observado a emissão de 450 nm, mas isto pode estar associado ao baixo sinal da fluorescência observada.

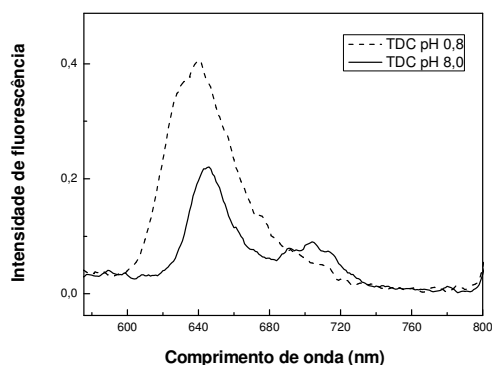


Figura 15: espectro de emissão fluorescente da TDC nos pHs 0,8 e 8,0.

Devido a proximidade do pico de emissão encontrado na região de 450 – 500 nm com o pico de absorção da banda de Soret (400 – 420 nm) acreditamos que esta emissão pode estar associada à emissão fluorescente $S_2 \rightarrow S_0$. Esta emissão não é comum de ser observada, pois normalmente é esperado ocorrer o processo de conversão interna $S_2 \rightarrow S_1$ e então correr a emissão fluorescente de $S_1 \rightarrow S_0$, conforme discutido na seção 3.2.1.

Os resultados obtidos podem ser sintetizados na tabela 2. Nesta tabela apresentamos as bandas de absorção e emissão nos diferentes estados de protonação e os valores de pK obtidos.

Tabela 2: apresentação objetiva dos resultados encontrados.

| Amostra | Estado de protonação | Bandas de absorção | | Bandas de emissão | | pK |
|---------|----------------------|--------------------|---------------------|-------------------|----------------|-----|
| | | Banda B (nm) | Bandas Q (nm) | Banda B (nm) | Bandas Q (nm) | |
| TF | Não protonada | 409 | 510, 543, 576 e 632 | - | 597, 603 e 696 | 3,5 |
| | Protonada | 428 | 538, 577 e 626 | 447 | 648 | |
| TDF | Não protonada | 408 | 508, 543, 575 e 628 | 477 | 594, 640 e 695 | 2,5 |
| | Protonada | 422 | 570 e 617 | 475 | 637 | |
| TC | Não protonada | 411 | 512, 545, 578 e 632 | 476 | 641 e 702 | 3,5 |
| | Protonada | 426 | 574 e 622 | 475 | 638 | |
| TDC | Não protonada | 415 | 516, 548, 583 e 638 | - | 645 e 704 | 2,1 |
| | Protonada | 427 | 575, 624 e 536 | - | 640 e 710 | |

Com os dados apresentados na tabela 2, pode-se verificar algumas mudanças espectroscópicas devido a alterações em sua estrutura eletrônica. Para a banda de absorção, o intenso pico da banda de Soret, em torno dos 400 a 420 nm, sofreu deslocamento com a protonação para 420 a 430 nm. A protonação também mostra alterações na banda Q ao passar de quatro picos de absorção, quando não protonada, para dois ou três picos quando protonada. É importante ressaltar que, de acordo com a literatura, eram esperados picos melhores definidos em torno de 525 e 550 nm para as formas não protonadas de porfirinas [13].

Para as bandas de emissão verificamos que, de 500 a 800 nm, seu espectro contém três picos quando não protonada e ao protonar, estes dois picos dão lugar a um único pico com maior intensidade de emissão. Já próximo na região de 450 a 480 nm observamos um pico que acreditamos ser uma emissão de S_2 , e que teremos de realizar estudos mais aprofundados.

Nos pontos de pK obtidos observamos que a amostra com dois Flúor (TDF) ou dois Cloro (TDC) tendem a um menor valor. Isto significa que estas amostras possuem uma maior dificuldade de protonar que as amostras contendo apenas um flúor ou um cloro. Com a TF e a TC o trabalho de protonação se desenvolve de forma mais simples e com o uso de menor quantidade do ácido para protonar.

5. Conclusões

Neste trabalho foram investigados os efeitos de pH em porfirinas sulfonadas halogenadas. Observamos consideráveis modificações em suas propriedades fotofísicas que estão atribuídas a diferentes estados de protonação. A presença de átomos halógenos na estrutura da porfirina dificulta sua protonação, sendo seus valores de pK encontrados em ambientes ácidos (3,5) e a presença de um segundo átomo halógeno dificulta ainda mais, sendo seu pK deslocado para próximo de 2,5. As modificações nas propriedades fotofísicas podem ser importantes para diversas aplicações como em fotônica, devido a alterações nas seções de choque de absorção, e na PDT, devido a mudanças na formação do estado tripleto. Na próxima etapa, pretendemos estudar com maior atenção a possível emissão de S_2 , o tempo de vida dos estados S_1 , as seções de choque dos estados excitados e a formação do estado tripleto.

6. Referências

- [1] P. J. Gonçalves; Tese de Doutorado: “Estudo das características fotofísicas da porfirina meso - tetrasulfonatofenil ($TPPS_4$): efeitos da protonação e interação com micelas de CTAB”, 2006.
- [2] P.W. Atkins, *Atkins' Physical Chemistry*, Universidade de Oxford, 6a edição, volume 2, ano 2002.
- [3] P. J. Gonçalves, L. P. F. Aggarwal, C. A. Marquezin, A. S. Ito, L. De Boni, N. M. Barbosa Neto, J. J. Rodrigues Jr., S. C. Zílio, I E Borissevitch, *J. Photochem. Photobiol.*, A 181 (2006) 378.
- [4] N. M. Barbosa Neto, S. L. Oliveira, L. Misoguti, C.R. Mendonça, P. J. Gonçalves, I. E. Borissevitch, L. R. Dineeli, L. L. Romualdo, A. A. Batista, S. C. Zílio. *J. Appl. Phys.* 99 (2006) 123103.
- [5] L. C. U. Junqueira; J. Carneiro. *Biologia celular e molecular*. 8. ed. -. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, c2005. 332 p., il. color.
- [6] P. J. Gonçalves, I. E. Borissevitch, S. C. Zílio. *Chemical Physics Letters* 469 (2009) 270.
- [7] N. L. Allinger, et al. *Química Orgânica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Ltc, c1976.
- [8] C. J. P. Monteiro, M. M. Pereira, S. M.A. Pinto, A. V.C. Simões, G. F.F. Sja, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, S. Simões, M. F. Wyatt, *Tetrahedron* **64** (2008) 5132.
- [9] C. J. P. Monteiro, C. Serpa, M. M. Pereira, M. E. Azenha, H. D. Burrows, L. G. Arnaut, M. J. Tapia, M. Sarakha, S. Navaratnam, *Photochem. Photobiol. Sci.* **4** (2005) 617.

[10] F. J. Holler; “Princípios de análise instrumental”; Douglas A. Skoog; tradução Célio Pasquini [et al]. -6. ed. - Porto Alegre: Brookman, 2009.

[11] Pesquisa em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABL8sAJ/espectroscopia-eletronica-absorcao>.

[12] Pesquisa em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAXWAAK/espectrofotometro>.

[13] A. Marcelli, P. Foggi, L. Moroni, C. Gellini, P. R. Salvi, I. J. Badovinac, J. Phys. Chem. A 111 (2007) 2276.